

特 許 協 力 条 約

発信人 日本国特許庁（国際調査機関）

代理人

特許業務法人特許事務所サイクス

様

あて名

〒104-0031

東京都中央区京橋一丁目8番7号
京橋日殖ビル8階

PCT

国際調査機関の見解書
(法施行規則第40条の2)
[PCT規則43の2.1]発送日
(日.月.年)

24. 5. 2005

出願人又は代理人

の書類記号 A51051A

今後の手続きについては、下記2を参照すること。

国際出願番号

PCT/J P 2 0 0 5 / 0 0 2 0 9 3

国際出願日

(日.月.年) 04. 02. 2005

優先日

(日.月.年) 04. 02. 2004

国際特許分類 (IPC) IntCl.⁷ C12N15/53, C07C55/08, C12P7/04, 7/40, 7/44

出願人 (氏名又は名称)

株式会社エーピーアイコーポレーション

1. この見解書は次の内容を含む。

- ☒ 第I欄 見解の基礎
☐ 第II欄 優先権
☐ 第III欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解の不作成
☒ 第IV欄 発明の単一性の欠如
☒ 第V欄 PCT規則43の2.1(a)(i)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
☐ 第VI欄 ある種の引用文献
☐ 第VII欄 国際出願の不備
☐ 第VIII欄 国際出願に対する意見

2. 今後の手続き

国際予備審査の請求がされた場合は、出願人がこの国際調査機関とは異なる国際予備審査機関を選択し、かつ、その国際予備審査機関がPCT規66.1の2(b)の規定に基づいて国際調査機関の見解書を国際予備審査機関の見解書とみなさない旨を国際事務局に通知していた場合を除いて、この見解書は国際予備審査機関の最初の見解書とみなされる。

この見解書が上記のように国際予備審査機関の見解書とみなされる場合、様式PCT/ISA/220を送付した日から3月又は優先日から22月のうちいずれか遅く満了する期限が経過するまでに、出願人は国際予備審査機関に、適当な場合は補正書とともに、答弁書を提出することができる。

さらなる選択肢は、様式PCT/ISA/220を参照すること。

3. さらなる詳細は、様式PCT/ISA/220の備考を参照すること。

見解書を作成した日

09. 05. 2005

名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

田中 晴絵

4 N

3 3 3 5

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

様式PCT/ISA/237 (表紙) (2004年1月)

第 I 欄 見解の基礎

1. この見解書は、下記に示す場合を除くほか、国際出願の言語を基礎として作成された。

- ☐ この見解書は、_____語による翻訳文を基礎として作成した。
それは国際調査のために提出された PCT 規則 12.3 及び 23.1(b) にいう翻訳文の言語である。

2. この国際出願で開示されかつ請求の範囲に係る発明に不可欠なヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下に基づき見解書を作成した。

a. タイプ ☒ 配列表

☐ 配列表に関連するテーブル

b. フォーマット ☐ 書面

☒ コンピュータ読み取り可能な形式

c. 提出時期 ☐ 出願時の国際出願に含まれる

☒ この国際出願と共にコンピュータ読み取り可能な形式により提出された

☐ 出願後に、調査のために、この国際調査機関に提出された

3. ☒ さらに、配列表又は配列表に関連するテーブルを提出した場合に、出願後に提出した配列若しくは追加して提出した配列が出願時に提出した配列と同一である旨、又は、出願時の開示を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

4. 補足意見：

第IV欄 発明の単一性の欠如

1. 追加手数料納付の求め(様式PCT/ISA/206)に対して、出願人は、

- ☐ 追加手数料を納付した。
- ☐ 追加手数料の納付と共に異議を申立てた。
- ☒ 追加手数料の納付はなかった。

2. ☐ 国際調査機関は、発明の単一性の要件を満たしていないと判断したが、追加手数料の納付を出願人に求めないこととした。

3. 国際調査機関は、PCT規則13.1、13.2及び13.3に規定する発明の単一性を次のように判断する。

- ☐ 満足する。
- ☒ 以下の理由により満足しない。

請求の範囲1-6、11-15に係る発明は、微生物(又は形質転換体細胞)若しくは該微生物から得られるカルボニル還元酵素画分の精製物を用いて製造した(S)-2-ペンタノール又は(S)-2-ヘキサノールに関するものであり、請求の範囲7に係る発明は、(R)又は(S)-1-メチルアルキルマロン酸を脱炭酸して(R)又は(S)-3-メチルカルボン酸を製造する方法であり、請求の範囲8に係る発明は、光学活性アルコールから(R)又は(S)-1-メチルアルキルマロン酸を製造する方法であり、請求の範囲9、10に係る発明は、(R)又は(S)-1-メチルアルキルマロン酸である。

それ故に、請求の範囲の全てに共通のPCT規則13.2における特別な技術的事項はなく、請求の範囲1-15に係る発明は、請求の範囲1-6、11-15に記載された発明、請求の範囲7に記載された発明、請求の範囲8に記載された発明、及び、請求の範囲9、10に記載された発明からなる4個の発明群からなるものであると認める。

請求の範囲1-6、11-15に共通の事項は、「微生物若しくは形質転換体細胞から得られるカルボニル還元酵素画分の粗精製物若しくは精製物を、2-ペンタノン又は2-ヘキサノンに作用させ、高光学純度の(S)-2-ペンタノール又は(S)-2-ヘキサノールを製造すること」である。しかしながら、文献1(Biosci. Biotechnol. Biochem. (1999), Vol.63, No.10, p.1721-1729)には、*Nocardia fusca* から精製した(S)-specific secondary alcohol dehydrogenaseを用いて2-ヘキサノンを還元することにより高光学純度の(S)-2-ヘキサノールを製造する方法、及び該(S)-specific secondary alcohol dehydrogenaseは2-ペンタノンも還元反応の基質とする旨が記載されており、文献2(H. GROGER, et. al., Tetrahedron (2004.01.12), Vol.60, No.3, p.633-640)には、*Rhodococcus erythropolis* 由来の(S)-alcohol dehydrogenase遺伝子で形質転換した大腸菌から得られる組換え体(S)-alcohol dehydrogenaseを用いてケトン還元して(S)-alcoholを得る方法、及び還元反応において2-ヘキサノンは特に適した基質であり、得られる(S)-alcoholの光学純度は99% ee.より高い旨が記載されており、文献3(W. HUMMEL, et. al., Adv. Synth. Catal. (2003), Vol.345, No.1+2, p.153-159: Erratum in Adv. Synth. Catal. (2003), Vol.345, No.3, A35)には、大腸菌で発現させた*R. erythropolis* 由来の(S)-alcohol dehydrogenaseを用いてケトンの還元反応を行うことにより、光学純度99% ee.の光学活性な(S)-2-hexanolを合成する方法が記載されていることから、上記共通事項は先行技術の域をでるものではなく、「微生物若しくは形質転換体細胞から得られるカルボニル還元酵素画分の粗精製物若しくは精製物を、2-ペンタノン又は2-ヘキサノンに作用させ、高光学純度の(S)-2-ペンタノール又は(S)-2-ヘキサノールを製造すること」はPCT規則13.2における特別な技術的特徴であるとは言えない。

したがって、請求の範囲1-6、11-15に係る発明は、請求の範囲1-6に記載された発明、請求の範囲11-15に記載された発明からなる2個の発明群からなるものであると認める。

さらに、文献1-3に記載されるように、微生物から得られる還元酵素若しくは還元酵素をコードするDNAを発現させた形質転換体から得られる還元酵素を2-ペンタノン又は2-ヘキサノンに作用させて(S)-2-ペンタノール又は(S)-2-ヘキサノールを生成させることは公知であり、特に文献2、3にはロドコッカス属に属する微生物から得られる還元酵素を用いる(S)-2-ヘキサノールの製造方法が記載されていることから、請求の範囲3-5に記載のプレッタノマイセス属、キャンディダ属、ホルテア属、... (略) ...ロドコッカス属に属する微生物を用いた(S)-2-ペンタノール又は(S)-2-ヘキサノールの製造方法は、単一の一般的発明概念を形成するように関連している一群の発明群であるとはいえず、異なった16属の微生物それぞれに関する16個の発明からなる発明群であると認める。

4. したがって、国際出願の次の部分について、この見解書を作成した。

- ☐ すべての部分
- ☒ 請求の範囲1、2、6、及び請求の範囲3-5のロドコッカス属に関する部分

第V欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についてのPCT規則43の2.1(a)(i)に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)	請求の範囲	1、3、5、6	有
	請求の範囲	2、4	無
進歩性 (IS)	請求の範囲	1、6	有
	請求の範囲	2-5	無
産業上の利用可能性 (IA)	請求の範囲	1-6	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明

文献1 : S. X. XIE, et. al., Biosci. Biotechnol. Biochem. (1999), Vol.63, No.10, p.1721-1729

文献2 : H. GROGER, et. al., Tetrahedron (2004.01.12), Vol.60, No.3, p.633-640

文献3 : W. HUMMEL, et. al., Adv. Synth. Catal. (2003), Vol.345, No.1+2, p.153-159:

(Erratum in Adv. Synth. Catal. (2003), Vol.345, No.3, A35)

【請求の範囲1】

請求の範囲1に記載された発明は、国際調査報告で引用された文献1～3に対して新規性、進歩性を有する。

文献1～3には、微生物若しくは形質転換体細胞、該微生物若しくは細胞処理物、該微生物若しくは細胞培養液、及び／又は、該微生物若しくは細胞から得られるカルボニル還元酵素画分の粗精製物若しくは精製物を2-ペンタノンに作用させ、(S)-2-ペンタノールを製造する方法であって、95%e.e.以上の光学純度の(S)-2-ペンタノールを生成することができる該製造方法が記載されておらず、しかもその点は、文献1～3から容易に想到し得ないものである。

【請求の範囲2】

請求の範囲2に記載された発明は、国際調査報告で引用された文献1から新規性を有さない。

文献1には、溶媒による前処理をしない *Nocardia fusca* から精製した(S)-specific secondary alcohol dehydrogenaseを用いて2-ヘキサノンを還元することにより光学純度100%e.e.の(S)-2-ヘキサノールを製造する方法が記載されている(第1721頁 Abstract、第1722頁左欄第1-54行、第1724頁右欄最終行-第1725頁左欄第5行、Fig. 5 参照。)。

また、該(S)-specific secondary alcohol dehydrogenase が触媒する2-ヘキサノンの還元反応の V_{max} は $260 \mu\text{mol/min/mg}$ であり、生菌体重量 30g から 0.45mg の精製酵素が得られる旨記載されている (Table 1 参照。)。

文献1に記載の(S)-specific secondary alcohol dehydrogenase はケトンの還元反応を触媒するので、本願の請求の範囲2に記載されている発明の「カルボニル還元酵素」に相当する。また、文献1に記載の2-ヘキサノールの生産性を上記数値より換算すると約 $24\text{mg(S)-2-ヘキサノール/g 生菌体重量/時間}$ となり、g 乾燥菌体重量当りの生産性は $1\text{mg(S)-2-ヘキサノール/g 生菌体重量/時間}$ 以上であると認められる。

したがって、請求の範囲2に記載された発明は、文献1に開示されている。

補充欄

いずれかの欄の大きさが足りない場合

第 V 欄の続き

請求の範囲2に記載された発明は、国際調査報告で引用された文献2、3それぞれから進歩性を有しない。

文献2には、*Rhodococcus erythropolis* 由来の(S)-alcohol dehydrogenase 遺伝子で形質転換した大腸菌から、溶媒による前処理をすることなく得られる組換え体(S)-alcohol dehydrogenase を用いてケトン還元して(S)-alcohol を得る方法、及び還元反応において 2-ヘキサノンには特に適した基質であり、得られる(S)-alcohol の光学純度は 99% ee.より高い旨が記載されている(第 633 頁 Abstract、第 635 頁右欄第 3-6 行、Table 3 参照。)

文献3には、大腸菌で発現させた *R. erythropolis* 由来の(S)-alcohol dehydrogenase を用いてケトンの還元反応を行うことにより、2-hexanone から光学純度 99% ee.の光学活性な(S)-2-hexanol を合成する方法が記載されており、該(S)-alcohol dehydrogenase を精製する際に大腸菌を溶媒による前処理をしない旨記載されている(第 153 頁 Abstract、第 156 頁右欄第 7-19 行、第 157 頁右欄第 6-16 行、Table 1、Scheme 3 参照。)

文献2、3に記載の(S)-alcohol dehydrogenase はケトンの還元反応を触媒するので、本願の請求の範囲2に記載されている発明の「カルボニル還元酵素」に相当する。

文献2、3に記載された発明は、*R. erythropolis* 由来の(S)-alcohol dehydrogenase 遺伝子で形質転換した大腸菌から得られる組換え体(S)-alcohol dehydrogenase を用いて 2-ヘキサノールを製造する方法であるが、2-ヘキサノールの生産性を高めようとして、形質転換した大腸菌内での(S)-alcohol dehydrogenase の発現量を調節して、2-ヘキサノールの生産性を 1mg(S)-2-ヘキサノール/g 生菌体重量/時間以上とすることは、適宜実施し得る程度のことである。

【請求の範囲3、5】

請求の範囲3、5に記載された発明は、国際調査報告で引用された文献2、3それぞれから進歩性を有しない。

文献2、3には「ロドコッカス属より選ばれる微生物、該微生物処理物、該微生物培養液、及び／又は、該微生物から得られるカルボニル還元酵素画分の粗精製物若しくは精製物を作用させ、(S)-2-ヘキサノールを製造する方法」については記載されていないが、文献2、3の大腸菌で発現させた *R. erythropolis* 由来の(S)-alcohol dehydrogenase を用いて 2-ヘキサノンから光学純度 99% ee.の光学活性な(S)-2-hexanol を合成することができる旨の記載を考慮すれば、(S)-alcohol dehydrogenase を元来有する *R. erythropolis* 自体若しくは該 *R. erythropolis* の処理物等を用いて、2-ヘキサノールから高光学活性な(S)-2-hexanol を製造しようとすることは、容易に想到し得たものである。

また、文献2、3に記載の *R. erythropolis* と同じロドコッカス属に属する微生物は、2-ヘキサノールから高光学活性な(S)-2-hexanol を合成することのできる(S)-alcohol dehydrogenase を有しているものと期待して、*R. erythropolis* 以外のロドコッカス属に属する微生物を用いて、2-ヘキサノールから高光学活性な(S)-2-hexanol を製造しようとすることも、容易に想到し得たものである。

【請求の範囲4】

請求の範囲4に記載されている発明は、国際調査報告で引用された文献2、3から新規性を有さない。

上記のとおり、請求の範囲4に記載されている発明は、文献2、3に開示されている。

【請求の範囲6】

請求の範囲6に記載された発明は、国際調査報告で引用された文献1～3に対して新規性、進歩性を有する。

文献1～3には、イサチェンキア・スクチュラータ(*Issatchenkia scutulata*)由来のカルボニル還元酵素をコードする DNA を発現させた形質転換体細胞を作用させ、(S)-2-ペンタノール又は(S)-2-ヘキサノールを製造する方法が記載されておらず、しかもその点は、文献1～3から容易に想到し得ないものである。